

УДК 597.554.3:577.125:576.89

**ХАРАКТЕР ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ЛИПИДОВ У ЛЕЩЕЙ,  
ЗАРАЖЕННЫХ *LIGULA INTESTINALIS***

**© Н. И. Силкина,\* Т. А. Суворова, М. А. Степанова,  
С. В. Кузьмичева**

Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН  
Ярославская обл., Некоузский р-н, пос. Борок, 152742

\* E-mail: [sni@ibiw.yaroslavl.ru](mailto:sni@ibiw.yaroslavl.ru)

Поступила 09.11.2018

Приводятся данные исследований содержания общих липидов и их фракционного состава в тканях печени, почки и селезенки леща *Abramis brama*, инвазированного плероцеркоидами *Ligula intestinalis*. Плероцеркоиды вызывают в организме рыб дисрегуляцию липидного обмена, сдвиг баланса липидных фракций и снижение адаптивного потенциала. Показана зависимость исследованных признаков от размера паразита и стадии развития. Наиболее значимые отличия зафиксированы между незараженными и зараженными половозрелыми паразитами рыбами.

*Ключевые слова:* *Ligula intestinalis*, лещ, липиды, печень, почки, селезенка.

Плероцеркоид *Ligula intestinalis* (Cestoda, Pseudophyllidea) — эндопаразит, обитающий в брюшной полости карповых рыб (Дубинина, 1966), в том числе леща *Abramis brama* (Abramiformes: Cyprinidae) — второго промежуточного хозяина. Инвазирование рыб плероцеркоидами происходит при поедании ими веслоногих рачков, зараженных процеркоидами (Дубинина, 1966). Процеркоиды, попадая в полость кишечника рыб, превращаются в плероцеркоидов, которые развиваются до инвазионной стадии. Созревание червей в полости тела рыб сопровождается соматическим ростом, органогенезом половой системы и накоплением энергетических запасов, необходимых для созревания паразита до инвазивной стадии и завершения процессов гаметогенеза в организме дефинитивного хозяина — рыбоядных птиц. Инвазивной стадии они достигают в течение 1—1.5 лет. При этом размер плероцеркоидов увеличивается до 100 см и более. У инвазированных рыб снижаются темпы роста, развития и т. д. (Давыдов, Микряков, 1988; Taylor, Hoole, 1993; Barus, Prokes, 1995; Loot et al., 2002; Shields et al., 2002; Смирнов, Богдан, 2007; Извекова, 2010; Новак, Новак, 2011). В конечном итоге у рыб нарушаются ориентация в пространстве, функция избегания и укрытия в толще воды. Они переходят к обитанию в поверхностном слое воды и становятся легкой добычей рыбоядных птиц — окончательных или дефинитивных хозяев.

Ранее на рыбах, инвазированных плероцеркондами *Ligula intestinalis*, установлено изменение темпов и направления липидного и углеводного обмена, лейкопоза, снижение индексов иммунокомпетентных органов (печень, почки, селезенка), а также активация процессов окислительного стресса, сопровождающаяся усилением перекисных процессов и снижением содержания антиоксидантов (Силкина, Микряков, 2005; Микряков, Силкина, 2006; Микряков и др., 2007; Смирнов, Богдан, 2007; Извекова, 2010, и др.). Сведения о характере и изменении показателей липидного обмена рыб в процессе их инвазирования плероцеркоидами, находящимися на разных стадиях развития, в литературе фрагментарны. Изучение этого вопроса представляется весьма важным для понимания механизмов адаптации, обеспечивающих рост и развитие плероцеркоида в организме рыб до инвазивной стадии и процесс перехода паразита к обитанию в окончательном хозяине (рыбоядных птицах).

Цель работы — сравнительное изучение содержания общих липидов и их фракционного состава в органах лещей, зараженных и незараженных *L. intestinalis*.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Исследования проводили на инвазированных лигулидами и неинвазированными лещами Рыбинского водохранилища, длиной 30—33 см, массой тела 600—650 г. Рыбы были условно разделены на 3 группы: I — незараженные (контрольные); II — инвазированные лещи с длиной тела лигулы не более 10 см и не достигшими инвазивной стадии; III — особи, являющиеся хозяевами червей размером свыше 70 см и большим числом половых комплексов (более чем 1 тыс.). Все лещи I и II групп выловлены в толще воды, а III — на водной поверхности.

Для исследования у рыб отбирали ткани печени, туловищной почки и селезенки. Содержание общих липидов (ОЛ) определяли гравиметрическим стандартным методом Фолча (Folch et al., 1957). Пробы фиксировали смесью хлороформ : метанол в соотношении 2 : 1 по объему. Разделение общих липидов проводили методом тонкослойной хроматографии восходящим способом на пластинках «Silufol» в системе растворителей — петролейный эфир : серный эфир : ледяная уксусная кислота (90 : 10 : 1 по объему).

Отдельные компоненты липидов выявляли в герметичной камере в парах иода (Кейтс, 1972). Определяли содержание фосфолипидов (ФЛ), триацилглицеринов (ТАГ), свободного холестерина (ХС), эфиров стероидов (ЭС), свободных незатерифицированных жирных кислот (НЭЖК) и углеводов (УВ), которые идентифицировали с помощью стандартов.

Статистическая обработка данных проведена с помощью прикладных программ Microsoft Office Excel 2003, Statistica 6.0.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ

У исследованных зараженных и незараженных лещей содержание ОЛ и отдельных фракций липидов значительно различалось. Обнаружены

Показатели липидного обмена незараженных и зараженных лигулезом лещей

Table. Lipid profile of uninfected bream and bream infested with *L. intestinalis*

Фракции липидов, % от суммы ОЛ	Зараженные <i>L. intestinalis</i>		
	Контроль I группа	II группа	III группа
Почки			
Общие липиды, мг %	970.0 ± 8.41	961.2 ± 12.80	973.0 ± 7.26
Фосфолипиды	51.0 ± 0.33	27.9 ± 0.67*	27.9 ± 0.23*
Холестерин	9.3 ± 0.26	12.4 ± 0.25*	14.8 ± 0.45**
Неэтерифицированные жирные кислоты	1.5 ± 0.11	2.5 ± 0.22*	3.2 ± 0.17*
Триацилглицериды	34.3 ± 0.41	52.2 ± 1.05*	48.4 ± 1.01*
Эфиры стериннов	3.0 ± 0.20	4.3 ± 0.23*	5.0 ± 0.08*
Углеводороды	0.6 ± 0.10	0.4 ± 0.06	0.5 ± 0.20
Селезенка			
Общие липиды, мг %	862.5 ± 10.5	861.2 ± 12.8	895.0 ± 2.88*
Фосфолипиды	47.0 ± 0.21	41.2 ± 0.23*	38.8 ± 0.14**
Холестерин	7.3 ± 0.18	9.4 ± 0.20*	10.4 ± 0.08**
Неэтерифицированные жирные кислоты	3.8 ± 0.14	4.6 ± 0.24*	5.1 ± 0.20*
Триацилглицериды	36.5 ± 0.26	39.1 ± 0.17*	40.0 ± 0.37*
Эфиры стериннов	4.8 ± 0.14	5.1 ± 0.15	5.1 ± 0.12
Углеводороды	0.6 ± 0.09	0.4 ± 0.08	0.4 ± 0.05
Печень			
Общие липиды, мг %	1065.0 ± 23.54	1217.5 ± 11.63*	1296.6 ± 10.13**
Фосфолипиды	23.7 ± 0.27	25.2 ± 0.12*	30.0 ± 0.69**
Холестерин	10.8 ± 0.12	12.0 ± 0.13*	15.1 ± 0.54**
Неэтерифицированные жирные кислоты	3.0 ± 0.10	3.5 ± 0.21	5.3 ± 0.40**
Триацилглицериды	52.0 ± 0.49	48.7 ± 0.44*	38.5 ± 1.24**
Эфиры стериннов	8.7 ± 0.20	8.9 ± 0.25	9.3 ± 0.34
Углеводороды	1.7 ± 0.19	1.6 ± 0.20	1.6 ± 0.16

Примечание. \* — различия достоверны при  $P > 0.05$ .

сходства и различия используемых показателей в разных органах (см. таблицу).

Достоверное повышение уровня ОЛ зафиксировано в печени зараженных лещей и в селезенке у рыб второй (II) группы. Значимые различия также обнаружены при сравнении фракционного состава липидов между зараженными и незараженными особями. Во всех органах зафиксировано повышение содержания ХС и НЭЖК и отсутствие различий содержания УВ. В почках и селезенке зараженных рыб снижается уровень ФЛ, а в печени повышается. Содержание ТАГ показало противоположные изменения: накопление в почках и селезенке и снижение в печени лещей II и III групп. Достоверное увеличение уровня ЭС отмечено только в почках зараженных рыб.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Липиды — источники метаболической энергии в организме, биологические эффекторы, регуляторы и медиаторы, участвующие практически во всех важнейших физиологических и биохимических процессах, происходящих в организме и способствующих его адаптации к неблагоприятным факторам среды (Сидоров и др., 1977; Лапин, Шатуновский, 1981; Сидоров, 1986; Гершанович и др., 1991). Различия между липидными показателями разных тканей указывают на зависимость процессов липидного обмена от особенностей структурно-функциональной организации исследуемых тканей. Одна из основных функций печени — обеспечение энергетических потребностей организма за счет контроля углеводного и липидного обмена. В этом органе происходит пополнение и сохранение энергетических быстро мобилизуемых резервов в виде гликогена, конвертация разных источников энергии (аминокислоты, свободные жирные кислоты, глицерин, молочная кислота и т. д.), осуществляется синтез ОЛ, ХС, ЭС и ФЛ. Метаболическая функция почек — обмен белков, углеводов и липидов, синтез белков и гормонов, участие в процессе глюконеогенеза. Селезенка принимает участие в белковом обмене, синтезе глобулинов, альбуминов и иммуноглобулинов.

Анализ полученных данных показал изменение темпов и направления липидного обмена в тканях зараженных лещей. Содержание ОЛ и количественное соотношение отдельных фракций в исследуемых органах различалось у разных групп рыб, что характеризует зависимость выявленных изменений от стадии развития паразита. Повышение уровня ОЛ в печени зараженных лещей, вероятно, связано с ответом организма на воздействие стресс-факторов. Ранее нами установлены высокие уровни ОЛ в сыворотке крови и печени рыб с крупноразмерными плероцеркоидами (длиной свыше 100 см) (Микряков, Силкина, 2006). Аналогичное повышение содержания ОЛ в тканях установлено у рыб, обитающих в водоемах с повышенной антропогенной нагрузкой (Лапин, Шатуновский, 1981; Микряков и др., 1990; Wille et al., 2002; Dwyer et al., 2003; Силкина и др., 2008, 2012).

Выявленные различия в изменении уровня содержания фракций ТАГ и ФЛ в тканях почек, селезенке и печени связаны со структурно-функциональными особенностями органов и отражают стратегию развития паразита в организме хозяина. У пораженных рыб депонирование ТАГ было максимальным, а структурных ФЛ — минимальным.

ТАГ составляют основную массу резервных липидов, используемых в качестве энергетического запаса организма для синтеза глюкозы или некоторых аминокислот, а также участвуют в защите внутренних органов рыб от механических повреждений и терморегуляции (Шатуновский, 1980; Климов, Никульчева, 1999; Богдан и др., 2001). Высокий уровень ТАГ в почках и селезенке может быть связан с накоплением в этих тканях резервов на энергетические нужды, тогда как низкий уровень в печени указывает на расход энергетического запаса этого органа и истощение организма. Вероятно, происходит перераспределение функции накопления запасных энергетических липидов между органами.

Низкий уровень ФЛ, участвующих в структурной организации клеточных мембран и выполняющих транспортную функцию в клетках, в почках

и селезенке инвазированных рыб, характеризует напряженность липидного обмена в этих тканях. Вероятно, это обусловлено подавлением образования или поступления в эти органы липотропных веществ (холин, метионин и др.), что значительно уменьшает синтез фосфолипидов из нейтрального жира (глицерина и жирных кислот) (Шатуновский, 1980; Гершанович и др., 1991).

Высокие уровни НЭЖК и ХС в исследуемых тканях зараженных рыб указывают на серьезные нарушения липидного обмена (Шатуновский, 1980; Лапин, Шатуновский, 1981; Сидоров, 1983; Гершанович и др., 1991). НЭЖК образуются из жировой ткани при липолизе и служат источником метаболической энергии и субстратом для структур клеточной мембраны. В печени они участвуют в синтезе ТАГ, ФЛ и ХС. Важно также отметить, что ФЛ и ХС — основные компоненты биологической мембраны, и их количественное изменение приводит к изменению свойств биомембран (проницаемости, степени устойчивости, микровязкости и др.). Увеличение содержания ХС, вероятно, связано с усилением секреции стероидных гормонов, в том числе кортизола — основного регулятора углеводного обмена (Плисецкая, Кузьмина, 1971; Плисецкая, 1975), активно синтезируемого при воздействии на организм стресс-факторов (Селье, 1960; Wendelaar Bonga, Sjoerd, 1997).

ЭС (стеролы) — предшественники многих биологически активных соединений, выполняют важную функцию в транспортировке ТАГ, жирных кислот, ФЛ, альфа- и бета-липопротеидов. Они участвуют в формировании клеточных мембран и липопротеидов низкой плотности и регуляции иммунитета (Климов, Никульчева, 1999; Богдан и др., 2001; Микряков, Силкина, 2006). Повышенные значения ЭС в почках отражают усиление метаболических процессов.

Полученные нами результаты согласуются с данными других авторов, отметивших различия в системе липидного метаболизма в разных органах и тканях при воздействии стрессирующих факторов различного происхождения (Шатуновский, 1980; Лапин, Шатуновский, 1981; Сидоров, 1983; Гершанович и др., 1991; Богдан и др., 2001; Wille et al., 2002; Dwyer et al., 2003; Смирнов, Богдан, 2007, и др.).

Таким образом, исследование содержания ОЛ и отдельных фракций липидов в тканях печени, почек и селезенки у рыб, инвазированных и неинвазированных плероцеркоидом *L. intestinalis*, показало различия величин исследуемых показателей и зависимость уровня изменений от стадии развития паразита. Плероцеркоиды вызывают в организме рыб дисрегуляцию липидного обмена, сдвиг баланса липидных фракций и снижение адаптивного потенциала. Установленные изменения отражают характер влияния гельминта на биохимические механизмы гомеостаза промежуточного хозяина и служат биохимическими механизмами защиты и компенсацией вероятных структурных повреждений. Происходящие в организме инвазированных рыб нарушения приводят к снижению адаптивного потенциала и последующей гибели хозяина.



### Список литературы

- Богдан В. В., Сидоров В. С., Зекина Л. М. 2001. Липиды рыб при адаптации к различным экологическим условиям. В сб.: Экологические проблемы онтогенеза рыб: физиолого-биохимические аспекты. М.: Изд-во МГУ. 188—202.
- Гершанович А. Д., Лапин В. И., Шатуновский М. И. 1991. Особенности обмена липидов у рыб. Успехи современной биологии. 3 (2) : 207—219.
- Давыдов В. Г., Микряков В. Р. 1988. Адаптивные структуры покровов тела цестод, связанные с защитой паразита от организма хозяина. В сб.: Иммунологические и биохимические аспекты взаимоотношений гельминта и хозяина. Труды гельминтологической лаборатории. М.: Наука. 36 : 88—100.
- Дубинина М. Н. 1966. Ремнецы фауны СССР. М.; Л.: Наука. 261 с.
- Извекова Г. И. 2010. Влияние плероцеркоидов *Ligula intestinalis* (L.) (Cestoda, Pseudophyllidea) на промежуточных хозяев — рыб. Успехи современной биологии. 130 (6) : 610—621.
- Кейтс М. 1972. Техника липидологии. М.: Мир. 300 с.
- Климов А. Н., Никульчева Н. Г. 1999. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения. СПб.: Питер Ком. 512 с.
- Лапин В. И., Шатуновский М. И. 1981. Особенности состава, физиологическое и экологическое значение липидов рыб. Успехи современной биологии. 1 : 380—394.
- Микряков В. Р., Андреева А. М., Лапирова Т. Б., Силкина Н. И. 1990. Реакция иммунной системы рыб Шекснинского плеса после аварии промышленных предприятий г. Череповца. В кн.: Влияние стоков Череповецкого промышленного узла на экологическое состояние Рыбинского водохранилища. Рыбинск: Институт биологии внутренних вод РАН. 144—155.
- Микряков В. Р., Силкина Н. И. 2006. Характеристика показателей перекисного окисления липидов в системе паразит—хозяин на примере *Ligula intestinalis* (Cestoda, Pseudophyllidea)—*Abramis brama* (L.). Биология внутренних вод. 4 : 63—66.
- Микряков Д. В., Степанова М. А., Силкина Н. И., Микряков В. Р. 2007. Интенсивность заражения дактилогирисами (*Dactylogyrus* sp.) леща *Abramis brama* (L.), большого лигулезом. В сб.: Икhtiологические исследования на внутренних водоемах: Материалы международной научной конференции. Саранск: Изд-во Мордовского государственного университета. 112—113.
- Новак А. И., Новак М. Д. 2011. Паразитоценозы водных экосистем Волжского бассейна. Рязань: Изд-во Рязанского государственного агротехнологического университета. 241 с.
- Плисецкая Э. М. 1975. Гормональная регуляция углеводного обмена у низших позвоночных. Л.: Наука. 215 с.
- Плисецкая Э. М., Кузьмина В. В. 1971. Уровень гликемии круглоротых (*Cyclostomata*) и рыб (*Pisces*). Вопросы ихтиологии. 11 (6) : 1077—1087.
- Селье Г. 1960. Очерки об адапционном синдроме. М.: Медгиз. 254 с.
- Сидоров В. С. 1983. Экологическая биохимия. Липиды. Л.: Наука. 240 с.
- Сидоров В. С. 1986. Эволюционные и экологические аспекты биохимии рыб. Автореф. дис. ...д-ра биол. наук. М. 50 с.
- Сидоров В. С., Лизенко Е. И., Рипатти П. О. и др. 1977. Липиды рыб (Литературный обзор). Сравнительная биохимия рыб и их гельминтов. Петрозаводск: Карельский филиал АН СССР. 5—56.
- Силкина Н. И., Микряков В. Р. 2005. Влияние *Ligula intestinalis* на некоторые показатели липидного обмена селезенки хозяина — леща *Abramis brama* разного возраста. Паразитология. 39 (4) : 299—305.
- Силкина Н. И., Микряков В. Р., Микряков Д. В. 2012. Характер изменения некоторых иммуно-физиологических показателей зараженных *Ligula intestinalis* лещей *Abramis brama* на разных стадиях развития. Известия РАН. Серия биологическая. 5 : 567—571.
- Силкина Н. И., Микряков Д. В., Микряков В. Р. 2008. Показатели липидного обмена у леща Рыбинского водохранилища. Повелужье: Проблемы, тенденции и

- перспективы социокультурного развития региона. Материалы Международной научно-практической конференции, г. Шарья, 18 апреля 2008 г. 314—318.
- Смирнов Л. П., Богдан В. В. 2007. Липиды в физиолого-биохимических адаптациях эктотермных организмов к абиотическим и биотическим факторам среды. М.: Наука. 182 с.
- Шатуновский М. И. 1980. Экологические закономерности обмена веществ морских рыб. М.: Наука. 238 с.
- Barus V., Prokes M. 1995. Parasite load of *Ligula intestinalis* plerocercoids in adult bream, *Abramis brama*. Acta Universitatis Carolinae. Biologica. 39 : 127—134.
- Dwyer K. S., Parrish C. C., Brown J. A. 2003. Lipid composition of yellowtail flounder (*Limanda ferruginea*) in relation to dietary lipid intake. Marine Biology. 143 : 659—667.
- Folch J., Lees M., Stanley G. N. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animals tissues. Journal of Biological Chemistry. 226 (3) : 497—509.
- Loot G., Poulin R., Lek S., Guegan J. F. 2002. The differential effects of *Ligula intestinalis* (L.) plerocercoids on host growth in three natural populations of roach, *Rutilus rutilus* (L.). Ecology of Freshwater Fish. 11 : 168—177.
- Shields B. A., Groves K. L., Rombaugh C., Bellmore R. 2002. Ligulosis associated with mortality in large scale suckers. Journal of Fish Biology. 61 : 448—455.
- Taylor M., Hoole D. 1993. *Ligula intestinalis* (L.) (Cestoda, Pseudophyllidae): polarization of cyprinid leucocytes as an indicator of host— and parasite—derived chemoattractants. Parasitology. 107 : 433—440.
- Wendelaar Bonga, Sjoerd E. 1997. The stress response in fish. Physiological Reviews. 77 (3) : 591—625.
- Wille K., McLeam E., Goddard J. S., Byatt J. C. 2002. Dietari lipid level and growth hormone alter growth and body conformation of blue tilapia, *Oreochromis aureus*. Aquaculture. 209 : 219—232.

#### THE CHARACTER OF CHANGES IN LIPID COMPOSITION IN BREAM INFESTED WITH *LIGULA INTESTINALIS*

N. I. Silkina, T. A. Suvorova, M. A. Stepanova, S. W. Kuzmicheva

*Key words:* *Ligula intestinalis*, bream, lipids, liver, kidneys, spleen.

#### SUMMARY

The data on studies of total lipid content and its fractional composition in liver, kidney, and spleen tissues of the bream infested with plerocercoids of *Ligula intestinalis* is given. Plerocercoid infestation results in the deregulation of the lipid metabolism, shift of the lipid fraction balance, and the decrease of the adaptation potential. The dependence of the studied parameters on the size of the parasite and its developmental stage is demonstrated. The most significant differences were observed between mature fish infested and non-infested with parasites.